

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-13

⑪ Int. Cl.<sup>4</sup> 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和62年(1987)1月6日  
 A 61 K 31/375 A C B 7330-4C  
 //(A 61 K 31/375 7330-4C 審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)  
 31:07)

⑭ 発明の名称 血栓症予防及び治療用組成物

⑮ 特 願 昭61-46944

⑯ 出 願 昭61(1986)3月4日

優先権主張 ⑰ 昭60(1985)3月9日 ⑱ 日本(JP) ⑲ 特願 昭60-46985

⑳ 発 明 者 稲 田 祐 二 東京都大田区下丸子2丁目24番10号 多摩川ハイム1号棟  
808号

㉑ 出 願 人 美 浜 久 春 東京都世田谷区梅丘2丁目23番36号

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

血栓症予防及び治療用組成物

## 2. 特許請求の範囲

又はそのエステル  
 ビタミンA<sub>γ</sub>とビタミンCを有効成分とする血  
 栓症予防及び治療用組成物。

## 3. 発明の詳細な説明

又はそのエステル  
 本発明は、ビタミンA<sub>γ</sub>とビタミンCを有効成  
 分とする血栓症予防および治療用組成物に関す  
 る。

脳血管疾患及び心疾患、例えば脳出血、脳血  
 栓、脳梗塞、心不全及び心筋梗塞は、血液凝固、  
 線溶系の低下による血栓の形成と深い係りがあ  
 る。従来、これらの血栓症の予防及び治療には、  
 凝固系を抑制させる薬剤としてヘパリン、クマ  
 リン誘導体が用いられ、線溶系を抗進させる薬  
 剤としてウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ等  
 の酵素製剤が開発されているが、抗原性、発熱  
 性、持続性が短い等の問題がある。

本発明者は、血栓を構成するフィブリンを溶

解するプラスミンは、血管内皮細胞から生成す  
 るプラスミノゲン賦活物質がプラスミノゲンに  
 作用して生成することに着目し、プラスミノゲ  
 ン賦活物質の生成を促進する物質を探索した結  
 果、ビタミンA<sub>γ</sub>とビタミンCとを併用すると、  
 両者の相乗作用により多量のプラスミノゲン賦  
 活物質が血管内皮細胞から放出されることを見  
 い出し、本発明をなした。

ビタミンA(レチノール)は夜盲症等の、ま  
 たビタミンC(L-アスコルビン酸)は壊血病  
 等の医薬として用いられているが、血栓症の予  
 防・治療効果については知られていない。

ビタミンAのエステルとしては、アセテート、  
 ラウレート、パルミテート、ステアレート等が  
 あげられるが、C<sub>12</sub>~C<sub>18</sub>の飽和脂肪酸とのエス  
 テルが好ましい。

本発明の血栓症予防及び治療剤は、ビタミン  
 A<sub>γ</sub>とビタミンCをそれぞれ又は医薬上許容され  
 る担体と配合して経口又は非経口用の製剤とし  
 て投与される。経口用製剤には、散剤、錠剤、

顆粒剤、カプセル剤、液剤、乳剤、シロップ剤が含まれる。また非経口用製剤には、注射剤、点滴剤、固剤等が例示できる。用いうる賦形剤としては、例えば水、エタノール、乳糖、でんぷん、デキストリン、磷酸カルシウム、炭酸カルシウム、珪酸アルミニウム、酸化マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、乾燥水酸化アルミニウム等が用いられる。

投与量は、患者の年齢、病状等により異なるが、成人にビタミンA<sup>として</sup>1万~10万IU/日及びビタミンC50~1000mg/日が用いられる。

以下に本発明の試験例を示し、説明する。

#### 試験例1

新鮮な牛頸動脈をと殺場から得、頸動脈を切開して内皮細胞層をけずりとる方法で内皮細胞を得た。この血管内皮細胞を、牛胎児血清を10%、ストレプトマイシン(50mg/ml)及びペニシリン(50単位/ml)を添加したイーグルの最小必須培地を入れたペトリ皿内で37℃で5%CO<sub>2</sub>恒温槽中で培養した。この培養内皮細胞を、

上記と同じ培地にエタノールに溶かした所定量のビタミンA及びビタミンCを添加した培地で、ペトリ皿中で一代培養した。培養後、培地を除き、内皮細胞を血清を含まないイーグルの最小必須培地で洗い、次いで血清を含まない同じ培地で37℃で8時間静置して、内皮細胞から遊離されたプラスミノゲン賦活物質を含む内皮細胞検体液を調製し、-20℃で保存した。

この検体液のプラスミノゲン賦活活性を測定するためのフィブリン懸濁液は次のようにして製造した。0.1mlの30μMフィブリン単量体溶液をpH5.3の1M異化ナトリウム-0.05M酢酸緩衝液中に溶かし、フィブリン塊を形成させるため、2mlの100g/lのアラビアゴム、3mlの0.5Mイミダゾール緩衝液(pH7.5)及び25mlの5mMリン酸-0.15M NaCl緩衝液(pH7.5)の混合液を加えた。この液を20kHzで30分超音波処理して微細粒子のフィブリン懸濁液を製造し、4℃で保存した。

第 1 表

添加量 (μM)		ウロキナーゼ	
ビタミン A	ビタミン C	換算単位 / 10 <sup>6</sup> 細胞	
0	0	0.6	
2.5	0	2.5	
7.5	0	5.3	
10	0	4.8	
15	0	5.3	
0	12.5	0.6	
0	25	0.8	
0	50	1.0	
0	100	1.3	
0	150	1.3	
2.5	+	50	8.1
7.5	+	50	10.7
10	+	50	14.8
15	+	50	13.3
10	+	12.5	10.4
10	+	25	14.5
10	+	50	14.8
10	+	100	18.6
10	+	150	20.0

プラスミノゲン賦活活性は次の方法により測定した。上記により製造した700μLのフィブリン懸濁液と100μLの0.7単位のプラスミノゲンの混液に、前記の内皮細胞検体液200μLを加え、37℃で保温し、フィブリン懸濁液の濁度の減少を比濁計で測定した。標準曲線は、検体液の代わりに0.005-0.08単位のウロキナーゼを用いた以外は同様にして20%濁度が減少する値から作成した。検体液中のプラスミノゲン賦活活性は、20%濁度が減少する値を標準曲線と比較し、10<sup>6</sup>内皮細胞当りのウロキナーゼ換算単位で示した。

ビタミンA及びビタミンCをそれぞれ単独で、あるいは同時に添加して培養した内皮細胞を、8時間静置して得られた検体液のプラスミノゲン賦活活性は、第1表に示すとおりである。

ビタミンAのみをその添加量を変えて培養した場合、ビタミンAの添加量を増加させるとプラスミノゲン賦活性が増加し、10  $\mu$ M以上の高濃度では無添加の約10倍の高レベルで一定値を示した。

一方、ビタミンCのみをその添加量を変えて培養した場合、ビタミンC約100  $\mu$ M以上の添加により、プラスミノゲン賦活物質の放出量は、無添加の約2倍のレベルで一定値を示した。

しかるに、ビタミンAとビタミンCとを同時に添加した場合、まずビタミンCの添加量を50  $\mu$ Mに固定し、ビタミンAの量を変えて培養した場合、ビタミンAの添加量を増加させるとプラスミノゲン賦活性はそれに伴ない増加し、ビタミンA 10  $\mu$ MとビタミンC 50  $\mu$ Mを併用した場合には、ビタミンC 50  $\mu$ Mのみ添加した場合の約1.5倍、また無添加の場合の約2.5倍という非常に高い活性値を示した。

また、ビタミンAの添加量を10  $\mu$ Mに固定し、ビタミンCの量を変えて培養した場合、ビタミ

ンCの添加量を増加させると、プラスミノゲン賦活性はそれに伴ない増加し、ビタミンA 10  $\mu$ MとビタミンC 150  $\mu$ Mを併用した場合には、ビタミンA 10  $\mu$ Mのみを添加した場合の約4倍、また無添加の場合の約3.3倍と、プラスミノゲン賦活物質の放出量は飛躍的に増大した。

また、ビタミンA パルミテート 10  $\mu$ MとビタミンC 150  $\mu$ Mとの併用についても同様に試験し、第2表に示すようにプラスミノゲン賦活物質の放出量は大巾に増加した。

第 2 表

添加量 ( $\mu$ M)		ウロキナーゼ 換算単位/ $10^8$ 細胞
ビタミンA パルミテート	ビタミンC	
10	0	5.5
0	150	1.3
10 +	150	26.3

上記試験例1から、ビタミンA<sup>アセテート</sup>とビタミンCの併用は明らかに相乗効果を示し、プラスミノゲン賦活物質を多量に放出することがわかる。

## 試験例 2

ビタミンA 1000 IU及びビタミンC 30mgを含むエタノール1%溶液1mlを体重約3kgの雌ウサギの耳静脈に注射した。経時的に2mlずつの血液を耳静脈より採り、血清中のフィブリノゲン量とフィブリン分解産物であるFDP量を、それぞれ分光学的方法 (Clim. Chem., 24, 351, 1978) 及び市販FDPキットを用いて定量した。その結果、血中フィブリノゲン量は時間の経過と共に減少し、一方FDP量は逆に増加し、両者は逆の相関が成立した。即ち、6時間後には、血中のフィブリノゲン量は平常時から約30%減少し、FDP量は平常時の10倍の15  $\mu$ g/mlの高い値を示した。

上記試験例から明らかなように、本発明の血栓症予防及び治療剤は、血管内皮細胞を刺激してプラスミノゲン賦活物質を生産させ、これを細胞外に放出して線溶系を活性化することによって、血栓の形成を予防又はフィブリン塊の融解を促進して治療する効果が顕著であり、従来の酵素製剤と比べて抗原性の恐れもなく優れている。

--  
AN 1998:413143 PROMT  
TI Waging war on wrinkles  
SO European Cosmetic Markets, (Aug 1998) pp. N/A.  
ISSN: 0957-1515.

LA English

WC 322

AB Major manufacturers are planning to unveil a number of technologically-advanced skin care products over the coming months. Here ECM reviews new offerings from Estee Lauder Guerlain, Lancaster, La Prairie, Clinique, Juvena, Valmont and Gatineau among

others.

Lauder keeps retinol under wraps

Following its December 1997 debut in the US, Estee Lauder is rolling out Diminish Anti-Wrinkle Retinol Treatment. Described as a breakthrough formula that delivers retinol, a pure form of vitamin A, in an entirely new way, Diminish is said to provide all the benefits of retinol technology without any of the undesirable effects that may occur with conventional retinol products. This "skin friendly" emulsion is said to treat and correct the appearance of deep lines and wrinkles and is very effective in reducing age/sun spots and discolourations. According to Lauder, Diminish provides a sustained delivery of retinol in the skin for more than 12 hours; this is achieved through the combination of three technologies.

Firstly, retinol is encapsulated in thalaspheeres

(microscopic

spheres), Lauder's unique delivery system which utilises natural collagen to insulate the retinol from the rest of the formula so that it remains pure, stable and effective. The second technology is the development of bio-compatible emulsions in the base which will not disturb the barrier properties of the stratum corneum, thereby regulating the penetration of retinol in the skin. Thirdly, the barrier function is strengthened by the use of ceramides, cholesterol and linoleic acid. Other active ingredients include whey protein, vitamins C and E, green tea, caffeine and sea whip extract. In addition to the formula technology Diminish's custom air-tight pumpable package also helps stabilise the retinol, shielding it from exposure to oxygen, light and other outside elements that can affect its purity and stability. Diminish should be used at night and it is recommended that a product with SPF15 be applied during the day time.

\* Launch: US in December 1997, international from August. Price: [pounds]35 (30ml).

THIS IS THE FULL TEXT: COPYRIGHT 1998 Wilmington Publishing Ltd. (UK)

CT \*PC2844513 Lubricating Creams incl Hormone

CC \*EC336 Product introduction

CO \*Estee Lauder Inc.

ICL \*BUSN Any type of business; DRUG Pharmaceuticals and Cosmetics; INTL Business, International

GT New: \*CC4EUUK United Kingdom

Old: \*CC4UK United Kingdom

FEAT COMPANY; NEWSLETTER

RN 57-88-5 (CHOLESTEROL)

58-08-2 (CAFFEINE)

60-33-3 (LINOLEIC ACID)

68-26-8 (RETINOL)

7782-44-7 (OXYGEN)

WPI

- TI - Compsn. for prevention and treatment of thrombosis - comprises mixt. of vitamin A or its ester with satd. fatty acid and vitamin C
- AB - J62000013 New composition for prevention and curing of thrombosis contains vitamin A or its ester and vitamin C as effective components.
- The diseases of cerebral hemorrhage, cerebral thrombosis, cerebral infarction, cardiac insufficiency and myocardial infarction are related to thrombus formation due to deterioration of the adenoid system. In this invention, attention is paid to the fact that the fibrinolysin which dissolves fibrin constituting thrombus is produced when profibrinolysin activator produced from endothelcells of blood vessel acts as profibrinolysin, and it is found that when vitamin A or its ester is used with vitamin C, a great amt. of profibrinolysin activator is discharged from endothelcells of blood vessel due to synergistic effect between both the vitamins. Ester produced with saturated 12-18C fatty acid is preferable as ester of vitamin A. The drugs for prevention and treatment of thrombosis prepared according to this invention can be administered orally or parenterally by combining vitamin A or its ester and vitamin C only or using medically approxed carrier.
- USE/ADVANTAGE - The invention provides composition for prevention and treatment of thrombosis. (0/0)
- PN - JP62000013 A 19870106 DW198706 003pp
- JP7017504B B2 19950301 DW199513 A61K31/375 003pp
- PR - JP19850046985 19850309
- PA - (MIHA-I) MIHAMA H
- MC - B03-A B03-F B12-H02
- DC - B03 B05
- IC - A61K31/37 ;A61K31/375
- AN - 1987-040730 [13]

PAJ

- TI - COMPOSITION FOR PREVENTING AND TREATING THROMBOSIS
- AB - PURPOSE: The titled composition, containing vitamin A and vitamin C as an active constituent, capable of stimulating hemangioendothelial cells to produce plasminogen activating substance, releasing the above-mentioned substance the outside of cells to activate the fibrinolytic system without fear of antigenicity and useful for preventing thrombosis.
- CONSTITUTION: A composition containing vitamin A or an ester thereof and vitamin C as an active constituent. Examples of the vitamin A ester include acetate, laurate, palmitate or stearate, etc., but an ester with a 12-18C saturated fatty acid is preferred. In use, the above-mentioned compound of the active constituent is individually or incorporated with a pharmaceutically acceptable carrier and administered as an oral or parenteral pharmaceutical. The dose thereof is 10,000-100,000IU/day expressed in terms of vitamin A and 50-1,000 mg/day expressed in terms of vitamin C for adults.
- PN - JP62000013 A 19870106
- PD - 1987-01-06
- ABD - 19870528
- ABV - 011167
- AP - JP19860046944 19860304
- GR - C425
- PA - HISAHARU MIHAMA
- IN - INADA YUJI
- I - A61K31/375